



**UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO
MESTRADO EM CIÊNCIA ANIMAL**

**AVALIAÇÃO DAS ALTERAÇÕES MORFOMÉTRICAS E TEMPO DE
EXPOSIÇÃO GLANDULAR EM CÃES COM PROTRUSÃO DA GLÂNDULA
LACRIMAL DA TERCEIRA PÁLPEBRA**

Maria Caroline Pereira Brito

Areia/PB

Julho de 2019



**UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO
MESTRADO EM CIÊNCIA ANIMAL**

**AVALIAÇÃO DAS ALTERAÇÕES MORFOMÉTRICAS E TEMPO DE
EXPOSIÇÃO GLANDULAR EM CÃES COM PROTRUSÃO DA GLÂNDULA
LACRIMAL DA TERCEIRA PÁLPEBRA**

Maria Caroline Pereira Brito

Orientadora: Prof. Dra. Danila Barreiro Campos

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal da Paraíba, como parte das exigências para a obtenção do título de Mestre em Ciência Animal.

Catálogo na publicação
Seção de Catalogação e Classificação

B862a Brito, Maria Caroline Pereira.

Avaliação das alterações morfométricas e tempo de exposição glandular em cães com protrusão da glândula lacrimal da terceira pálpebra / Maria Caroline Pereira Brito. - Areia, 2019.
36 f. : il.

Orientação: Profa Dra Danila Barreiro Campos Campos.
Coorientação: Profa Dra Ivya Carmen Talieri Talieri.
Dissertação (Mestrado) - UFPB/Cca.

1. Cherry eye; acinos; ducto glandular. I. Campos,
Profa Dra Danila Barreiro Campos. II. Talieri, Profa
Dra Ivya Carmen Talieri. III. Título.

UFPB/BC

MARIA CAROLINE PEREIRA BRITO

**CORRELAÇÃO DAS ALTERAÇÕES MORFOMÉTRICAS E
TEMPO DE EXPOSIÇÃO GLANDULAR EM CÃES COM
PROTRUSÃO DA GLÂNDULA LACRIMAL DA TERCEIRA
PÁLPEBRA**

Dissertação apresentada ao
Programa de Pós-Graduação em
Ciência Animal do Centro de Ciências
Agrárias da Universidade Federal da
Paraíba, como parte das exigências
para a obtenção do título de Mestre
em Ciência Animal. Área de
Concentração Saúde Animal no Brejo
Paraibano.

APROVADA EM 30/07/2019

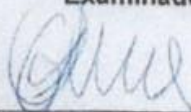
BANCA EXAMINADORA



Dra. IVIA CARMEM TALIERI
UFPB
Coorientadora



Dra. CRISTIANE DOS SANTOS HONSHO
Examinadora



Dra. GISELE DE CASTRO MENEZES
Examinadora

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

Maria Caroline Pereira Brito - nascida em 06 de março de 1986, na cidade de Monteiro-Paraíba. Possui graduação em Medicina Veterinária pela Universidade Federal da Paraíba, Campus II, Areia – PB, em 2016 e Pós-graduação em Dermatologia Veterinária pela Equalis, Recife-Pernambuco, em 2018. É membro da Comissão de Ética, Bioética e Bem –estar Animal do Conselho Regional de Medicina Veterinária da Paraíba, desde 2016. Bombeira Militar desde 2011 e atualmente é Médica Veterinária do Departamento de Operações com Cães do Corpo de Bombeiros Militar da Paraíba. Possui experiência nas áreas de clínica médica, oftalmologia e dermatologia veterinária de cães e gatos, além de experiência na utilização de cães de busca e resgate de pessoas perdidas e corpos, em estruturas colapsadas, matas, desmoronamentos e alagamentos.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, que foi minha maior fortaleza nos momentos de angústia e desespero, meu incentivo para não desistir. Sem ELE, nada disso seria possível.

À minha mãe Margarete (*in memoriam*), que lutou para que pudesse ter uma educação de qualidade, torcia por um futuro brilhante para seus filhos, me fez estudar para buscar sempre o melhor como profissional. Ao meu irmão Augusto que foi meu maior incentivo a batalhar depois da morte da nossa mãe.

Agradeço a todos professores que tive a satisfação de conhecer durante o curso, em especial à professora Ivira Carmem Talieri, que simplesmente fez o papel de mãe adotiva e cuidou da minha orientação nesse projeto para que pudesse chegar ao final de forma tão plena, obrigada pela incansável dedicação e confiança. Aos professores Danila Campos e Ricardo Guerra, por toda ajuda ofertada aos trabalhos de pesquisa e na minha formação.

Aos colegas que trabalham no Hospital Veterinário de Areia, onde tive a honra de participar e ter o apoio de todos para que a pesquisa e experimento se realizasse da melhor forma possível. Aos residentes do hospital que deram sua contribuição de forma brilhante. Em especial ao colega Edjânio que foi peça fundamental para o término das análises, e com sua competência auxiliou em tudo.

Um agradecimento especial a todos os colegas de curso, que deixaram as aulas, projeto e experimento muito melhor, auxiliando em cada etapa a ser executada.

Agradeço ao meu marido Daniel Alisson, que ao longo desses meses foi compreensivo com minha ausência e me ajudou em diversos momentos.

Não posso deixar de agradecer imensamente a todos os animais que participaram desta pesquisa, sem eles nada seria possível. E aos tutores que confiaram no nosso trabalho.

A todos um abraço e um muito obrigado por tudo.

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS.....	8
LISTA DE TABELAS.....	9
Resumo	9
Abstract	10
Considerações Gerais	11
Capítulo I.....	16
AVALIAÇÃO DAS ALTERAÇÕES MORFOMÉTRICAS E TEMPO DE EXPOSIÇÃO GLANDULAR EM CÃES PROTRUSÃO DA GLÂNDULA LACRIMAL DA TERCEIRA PÁLPEBRA	16
RESUMO	17
ABSTRACT.....	17
INTRODUÇÃO	18
MATERIAL e MÉTODOS.....	19
RESULTADOS	23
DISCUSSÃO	27
CONCLUSÕES.....	29
REFERÊNCIAS	30
Considerações Finais	32
Anexo	33
Referências	34

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1-** Bulldog francês, macho, 10 meses de idade, com protrusão unilateral da glândula lacrimal da terceira pálpebra há dois meses..... 20
- Figura 2-** Média dos valores do teste lacrimal de Schirmer tipo 1 em 15 cães (18 glândulas) com diferentes tempos de protrusão da glândula da terceira pálpebra. 23
- Figura 3 –** Média do tamanho da área dos ácinos da glândula lacrimal da terceira pálpebra em 15 cães (18 glândulas) com diferentes tempos de protrusão da glândula lacrimal da terceira pálpebra..... 24
- Figura 4 -**Média da espessura da parede da glândula dos 15 cães (18 glândulas) com diferentes tempos de protrusão da glândula da terceira pálpebra. 25
- Figura 5-** Fotomicrografias de glândulas lacrimais da terceira pálpebra de cães com diferentes tempos de protrusão (A: 0-6 meses; B: 7-12 meses; C: acima de 12 meses de protrusão). Observar que o epitélio (linha preta) das glândulas do grupo “A” é mais espesso que nos demais grupos (B, C). Observar também que em média, as glândulas (asterisco) do grupo “A” tem maior área que as dos demais grupos (B, C). Coloração de hematoxilina-eosina. Aumento de 400x. 25
- Figura 6 -** Fotomicrografias representativas de glândulas lacrimais da terceira pálpebra de cães com diferentes tempos de protrusão. Observar que quando da protrusão há um acúmulo de tecido conjuntivo (asteriscos) periglandular levando a uma hipertrofia glandular. Coloração de Picrossírius. Aumento de 400x..... 26
- Figura 7 -** Infiltrado inflamatório misto moderado, composto por linfócitos (seta grossa), plasmócitos (seta média) e neutrófilos (seta fina) em canino com protrusão da glândula lacrimal da terceira pálpebra há mais de 12 meses. Coloração de hematoxilina-eosina. Aumento de 1000x. 26
- Figura 8 -** Fotomicrografias de imunohistoquímica para anti-PCNA (positividade nuclear) em glândulas lacrimais da terceira pálpebra de cães com diferentes tempos de protrusão. (A: 0-6 meses; B: 7-12 meses; C: acima de 12 meses de protrusão; D: Controle negativo). Poucas células PCNA positivas (pontas de setas), ou seja, escassas células do epitélio glandular encontravam-se em proliferação celular nos diferentes grupos. Coloração de hematoxilina + cromófo DAB (diaminobenzidina). Aumento de 400x. 27

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Raça, sexo , idade, olho acometido (*) e valores do teste lacrimal de Schirmer tipo 1 (TLS-1) dos cães dos Grupos 1, 2 e 3, mensurados no dia da realização do procedimento cirúrgico para sepultamento da glândula lacrimal da terceira pálpebra e 15 dias após, em mm/minuto.....	24
---	----

AVALIAÇÃO DAS ALTERAÇÕES MORFOMÉTRICAS E TEMPO DE EXPOSIÇÃO GLANDULAR EM CÃES COM PROTRUSÃO DA GLÂNDULA LACRIMAL DA TERCEIRA PÁLPEBRA

Resumo Geral

A protrusão da glândula lacrimal da terceira pálpebra é uma afecção de etiologia incerta, comum em cães jovens. Acredita-se que ocorram inflamação e enfraquecimento do tecido conjuntivo que fixa anatomicamente a glândula lacrimal aos tecidos periorbitais, expondo-a e sendo capaz de produzir alterações patológicas no tecido glandular e, conseqüentemente, interferindo na produção do filme lacrimal. O estudo teve o propósito de correlacionar o tempo de protrusão da glândula lacrimal da terceira pálpebra às alterações morfométricas decorrentes no tecido glandular e seus efeitos sobre a produção lacrimal. Foram analisadas 18 glândulas de 15 cães (oito fêmeas e sete machos) portadores de protrusão da glândula lacrimal da terceira pálpebra, hígidos, com idade, peso e raça variados. Os cães foram divididos em três grupos de acordo com o tempo de exposição da glândula. O Grupo 1 foi composto por cães com até seis meses de protrusão, o Grupo 2, por cães com sete a 12 meses de protrusão e o Grupo 3 por animais que apresentavam a doença há mais de 12 meses. Em todos os cães foi realizado o reposicionamento glandular utilizando-se a técnica de Morgan. Com os animais anestesiados, imediatamente antes do sepultamento cirúrgico, procedeu-se à coleta de um fragmento da glândula para a análise histopatológica e morfométrica. O Grupo 1 apresentou maior área e maior espessura dos ácinos glandulares, comparativamente aos Grupos 2 e 3. O Grupo 3 apresentou menor produção de lágrima de acordo com o teste de Schirmer, comparativamente aos Grupos 1 e 2. Houve predominância de hipertrofia celular nos tecidos analisados. O Grupo 3 apresentou infiltrado inflamatório de moderado a acentuado. Para a produção de colágeno não foi encontrada diferença significativa entre os grupos. A exposição da glândula lacrimal da terceira pálpebra pode reduzir a produção da lágrima, e esta alteração parece ser diretamente proporcional ao tempo de exposição da glândula, com atrofia dos ácinos glandulares e diminuição da área de tecido secretor da lágrima. Desta forma, salienta-se a relevância do reposicionamento cirúrgico precoce da glândula.

Palavras-chave: *Cherry eye*; ácinos; ducto glandular.

EVALUATION OF MORPHOMETRIC CHANGES AND GLANDULAR EXPOSURE TIME IN DOGS WITH THIRD EYELID GLAND PROTRUSION

Abstract

Third eyelid gland protrusion is a condition of uncertain etiology, common in young dogs. It is believed that inflammation and weakening of the connective tissue that anatomically fixes the lacrimal gland to the periorbital tissues occurs, exposing it and triggering pathological changes in the glandular tissue, which will consequently interfere in the tear film production. The purpose of the study was to correlate the protrusion time of the third eyelid gland to the morphometric changes that occurred in the glandular tissue and its effects on lacrimal production. Eighteen glands of 15 dogs (eight females and seven males) with third eyelid gland protrusion were analyzed. The animals were healthy, with varying age, weight and breed. The dogs were divided into three groups according to the time of exposure of the gland. Group 1 was composed of dogs with up to six months of protrusion, Group 2, by dogs with seven to 12 months of protrusion and Group 3 by animals that had the disease for more than 12 months. In all dogs the glandular repositioning was performed using the Morgan technique. During anesthesia, immediately before surgical burial, a fragment of the gland was collected for histopathological and morphometric analysis. Group 1 presented a larger area and greater thickness of glandular acini, compared to Groups 2 and 3. Group 3 presented lower tear production according to the Schirmer test, compared to Groups 1 and 2. There was a predominance of cellular hypertrophy. Group 3 presented moderate to severe inflammatory infiltrate. No significant difference was found between groups in relation to collagen production. Exposure of the lacrimal gland of the third eyelid may reduce tear production, and this change seems to be directly proportional to the time of exposure of the gland, with atrophy of the glandular acini and decrease of the area of tear secreting tissue. Thus, the relevance of early surgical repositioning is emphasized.

Keywords: Cherry eye; acini; glandular duct.

Considerações Gerais

A terceira pálpebra em cães, ou membrana nictitante, faz parte da porção secretora do aparelho lacrimal e está localizada entre a pálpebra inferior e o bulbo do olho, possuindo em seu interior, uma cartilagem em formato de 'T' que provê sua sustentação (SLATTER, 2005; COLITZ *et al.*, 2008). A glândula lacrimal da terceira pálpebra situa-se na porção ventral do eixo vertical da cartilagem, posterior ao arco orbital, tão profundamente que não pode ser visibilizada quando em sua posição anatômica (GIULIANO, 2013). A face convexa da conjuntiva da terceira pálpebra é contígua à conjuntiva da pálpebra inferior, sendo chamada de face palpebral, e a parte côncava está em contato com o bulbo do olho, denominada de face bulbar (MOORE *et al.*, 1996; SLATTER, 2005; COLITZ *et al.*, 2008).

A defesa mecânica da superfície ocular é uma das principais funções da terceira pálpebra, que se projeta no sentido dorsolateral quando o olho é retraído pelo músculo retrator do bulbo ocular. A sua movimentação é passiva, pois a terceira pálpebra é desprovida de musculatura (GIULIANO, 2013). A terceira pálpebra também auxilia as pálpebras superior e inferior a distribuir o filme lacrimal sobre a córnea, fazendo a remoção de debris celulares e sujidades (MOORE, 1998; SLATTER, 2005). Além disso, a sua glândula lacrimal produz uma proporção significativa do total da lágrima produzida no olho (30% da porção aquosa do filme lacrimal precorneal), sendo o restante 70% produzido pela glândula lacrimal principal, situada na periórbita (STADES *et al.*, 1999; SLATTER, 2005).

A presença de tecido linfóide na constituição tecidual da terceira pálpebra auxilia nos mecanismos de defesa imunológica da superfície ocular, produzindo anticorpos e lisozima que se integram à lágrima. O anticorpo predominante é a imunoglobulina A, secretada pelas células gigantes e conferem imunidade humoral (GIULIANO, 2013).

O filme lacrimal precorneal, ou simplesmente lágrima, é composto por três camadas com diferentes composições: uma camada superficial externa de lipídios, produzida pelas glândulas tarsais; uma camada intermediária, formada basicamente por 98,2 % de água e 1,8 % de sólidos, produzida pelas glândulas lacrimais principal e da terceira pálpebra; e a camada mais interna, consistindo de mucina, produzida pelas

células caliciformes da conjuntiva (SLATTER, 2005; COLITZ *et al.*, 2008; GIULIANO, 2013).

A quantidade de filme lacrimal produzida é mensurada pelo teste lacrimal de Schirmer (TLS). O teste é composto por tiras milimetradas de papel filtro Whatman n.41, colocadas no saco conjuntival inferior durante um minuto para medir a produção lacrimal neste intervalo de tempo, em mm/minuto. O TLS tipo 1 é realizado sem anestesia tópica, medindo as produções basal e reflexa, e o TLS tipo 2 é conduzido com o uso de colírio anestésico, instilado anteriormente para abolir a produção reflexa de lágrima pela presença da tira do teste (SLATTER, 2005; GIULIANO, 2013). No TLS tipo 1 valores abaixo de 5 mm/min confirmam o diagnóstico de ceratoconjuntivite seca no cão e valores menores do que 10 mm/min, associados aos sinais clínicos, são considerados suspeitos para a doença. Dessa maneira, para a espécie canina, os valores normais do TLS-1 é de $18,64 \pm 4,47$ mm/min a $23,90 \pm 5,12$ mm/min, de acordo com Giuliano (2013).

As glândulas exócrinas, das quais fazem parte as glândulas lacrimais, podem ser unicelulares e multicelulares, apresentando o parênquima como tecido funcional. Elas são formadas por dois componentes, as unidades secretoras, que sintetizam e secretam substâncias, e os ductos secretores que transportam a secreção para a superfície epitelial. As glândulas com um único ducto não ramificado são chamadas de glândulas simples. Já as maiores possuem um sistema de glândulas compostas, as quais são envolvidas por uma cápsula de tecido conjuntivo que envia septos para o interior do parênquima glandular, tornando-o subdividido em lobos. Os septos mais finos dividem os lobos em unidades menores denominadas lóbulos (GENESER, 2003; KIERSZENBAUM, 2008).

Histologicamente, as glândulas lacrimais são constituídas por unidades secretoras, ductos e tecido conjuntivo de sustentação (DUGAN, 1992; CORMACK, 1996; SLATTER, 2005, CABRAL *et al.*, 2005; GIULIANO, 2013). Os ductos e unidades secretoras das glândulas lacrimais, que são componentes epiteliais, compõem o parênquima glandular. O estroma, que é formado por tecido conjuntivo frouxo a denso, inclui vasos sanguíneos e nervos (CORMACK, 1996). Nos quadros de protrusão da glândula lacrimal da terceira pálpebra, a exposição glandular continuada pode suscitar alterações celulares como hiperplasia e/ou hipertrofia e adenite discreta (READ *et al.*, 1996).

A glândula lacrimal da terceira pálpebra é do tipo acinosa serosa com células mioepiteliais, configuradas por lobos, separados com ductos excretors. Estas glândulas

recebem estímulos aferentes de fibras nervosas simpáticas e parassimpáticas. No momento das incursões palpebrais, o movimento de piscar dos olhos produz compressão suave e a lágrima é liberada, mantendo a superfície conjuntival e a córnea umedecidas, além de remover as sujidades (GENESER, 2003; KIERSZENBAUM, 2008).

Na classificação histológica, a glândula lacrimal é considerada uma glândula tubular constituída somente por células glandulares serosas em suas terminações secretoras. As células mioepiteliais, citadas anteriormente, encontram-se inseridas nestas porções terminais secretoras e nos condutos excretores, entremeadas entre as células epiteliais e a membrana basal, e todos são envolvidos em estroma de tecido conjuntivo, que costuma ser rico em linfócitos e plasmócitos, os quais são, também, liberados no filme lacrimal (GENESER, 2003).

A protrusão da glândula lacrimal da terceira pálpebra é uma afecção comum em cães, e rara em gatos, causada por processos de hiperplasia e de hipertrofia glandular, sendo também denominada de *cherry eye*, em virtude de sua aparência arredondada e de coloração avermelhada (CHAHORY *et al.*, 2004; SLATTER, 2005; COLITZ *et al.*, 2008, GIULIANO, 2013).

A etiologia ainda é desconhecida, contudo, acredita-se que ocorram inflamação e enfraquecimento do tecido conjuntivo que mantém a glândula lacrimal à sua posição anatômica, permitindo que ela migre dorsalmente para se projetar acima da margem principal da terceira pálpebra (SLATTER, 2005; MAZZUCHELLI *et al.*, 2012).

Os sinais clínicos associados à hiperplasia/ hipertrofia da glândula lacrimal da terceira pálpebra incluem epífora, hiperemia conjuntival e súbito desenvolvimento de massa de coloração rósea a avermelhada, presente no canto medial do olho (MARTIN, 2009; DEGHAN *et al.*, 2012). É mais comum em cães jovens e existe predisposição racial do Cocker Spaniel, Basset Hound, Beagle, Boston Terrier, Bulldog Inglês e Francês, Pug, Lhasa Apso, Pequinês e Shih Tzu (MORGAN *et al.*, 1993; HENDRIX, 2007; WOUK *et al.*, 2009; DOMENICO *et al.*, 2016). Sugere-se também que a protrusão esteja relacionada à conformação anatômica da órbita em raças braquicefálicas, podendo ser unilateral ou bilateral (MORGAN *et al.*, 1993).

Antes de 1980, o tratamento de escolha para a protrusão da glândula lacrimal da terceira pálpebra era a remoção completa da glândula lacrimal, procedimento que poderia engendrar redução da produção lacrimal e consequente ceratoconjuntivite seca em cães (MORGAN *et al.*, 1993; SAITO *et al.*, 2001; PLUMMER *et al.*, 2008;

DEHGHAN *et al.*, 2012, GIULIANO, 2013). O uso de medicações anti-inflamatórias tópicas à base de esteroides resulta em uma pequena diminuição da glândula, sendo o reposicionamento cirúrgico a técnica de escolha para correção da protrusão (MORGAN *et al.*, 1993; MOORE *et al.*, 1996). Saito *et al.* (2001) mostraram que microlesões na córnea foram observadas em cães da raça Beagle após um ano da excisão cirúrgica da glândula lacrimal da terceira pálpebra, comprovando a interferência sobre a quantidade de lágrima produzida.

A técnica cirúrgica de sepultamento da glândula lacrimal é uma das opções mais utilizadas para a correção de protrusão da glândula da terceira pálpebra. É denominada de técnica de *pocket* de Morgan devido à criação de uma bolsa na conjuntiva da própria terceira pálpebra, confeccionada para reposicionar a glândula. Duas incisões paralelas à superfície conjuntival bulbar, ao redor da glândula, são realizadas e as bordas externas de cada incisão são unidas por um plano de sutura simples contínua. Quando a sutura é finalizada, a glândula é empurrada ventralmente e retorna ao seu local anatômico, dentro do saco conjuntival da terceira pálpebra (MORGAN *et al.*, 1993; MOORE *et al.*, 1996; MARTIN, 2009; GIULIANO, 2013).

De acordo com a preferência, alguns médicos veterinários ainda realizam um segundo plano de sutura invaginante, do tipo “Conneg” para recobrir o fio e evitar que ele toque a córnea. A ancoragem da sutura é feita no lado externo da terceira pálpebra a fim de se evitar abrasão da córnea pelo fio de sutura (MORGAN *et al.*, 1993; MOORE *et al.*, 1996; MARTIN, 2009).

A técnica de ancoramento no periósteo é segunda técnica cirúrgica mais empregada, dentre outras, principalmente quando a hipertrofia glandular é acentuada e a glândula protruída se torna opulenta. O ancoramento é realizando através da fixação a glândula lacrimal ao periósteo do osso lacrimal, com sutura em “U”. Para tanto, realiza-se uma incisão na pele abaixo da pálpebra inferior, faz-se a fixação com um fio de náilon 4.0 ou vicryl 4.0 no periósteo e outra no saco conjuntival, o ponto final é feito na pele no mesmo ponto de incisão (WOUK *et al.*, 2009, GIULIANO, 2013).

Múltiplos fatores podem influenciar a produção lacrimal, dentre eles estão os fatores fisiológicos, como idade, gênero e raça, os ambientais (umidade relativa e temperatura, uso de alguns fármacos) e os patológicos. A ceratoconjuntivite seca, em suas várias etiologias, é elencada como a principal causa patológica da diminuição da produção de lágrima no cão, suspeita-se ainda que hiperplasia/hipertrofia da glândula lacrimal da terceira pálpebra possa também influenciar negativamente na produção

lacrimal, a depender do tempo de protrusão da glândula lacrimal e das alterações histopatológicas que ela sofre durante essa exposição (GIULIANO, 2013).

O trabalho tem como propósito correlacionar o tempo de protrusão da glândula lacrimal da terceira pálpebra às alterações morfométricas decorrentes no tecido glandular e à produção do filme lacrimal, posto que não existem informações na literatura sobre tal interdependência. Dessa maneira, espera-se averiguar se o tempo de exposição glandular interfere na sua função secretora e quais alterações histopatológicas podem ser evidenciadas.

Capítulo I

AVALIAÇÃO DAS ALTERAÇÕES MORFOMÉTRICAS E TEMPO DE EXPOSIÇÃO GLANDULAR EM CÃES PROTRUSÃO DA GLÂNDULA LACRIMAL DA TERCEIRA PÁLPEBRA

Manuscrito submetido à revista

Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia

AVALIAÇÃO DAS ALTERAÇÕES MORFOMÉTRICAS E TEMPO DE EXPOSIÇÃO GLANDULAR EM CÃES COM PROTRUSÃO DA GLÂNDULA LACRIMAL DA TERCEIRA PÁLPEBRA

RESUMO - A protrusão da glândula lacrimal da terceira pálpebra é uma afecção de etiologia incerta comum em cães, onde a exposição continuada da glândula pode suscitar alterações patológicas em seu tecido e, conseqüentemente, interferir na produção lacrimal. Objetivou-se correlacionar o tempo de protrusão da glândula lacrimal às alterações histopatológicas e seus efeitos sobre a produção lacrimal. Foram analisadas 18 glândulas de cães portadores da doença divididas em 3 grupos (Grupo 1: até seis meses de protrusão; Grupo 2: sete a 12 meses de protrusão; e Grupo 3: mais de 12 meses de protrusão). O reposicionamento glandular foi realizado pela técnica de Morgan e houve coleta de fragmento glandular para análise histopatológica. O Grupo 1 apresentou maiores área e espessura dos ácinos, comparativamente aos Grupos 2 e 3. No Grupo 3 houve menor produção de lágrima, comparativamente aos Grupos 1 e 2, e o infiltrado inflamatório apresentou-se de moderado a acentuado. A produção de colágeno não diferiu entre os grupos. Na imunohistoquímica poucas núcleos celulares encontravam-se em proliferação. A exposição da glândula lacrimal provoca alterações histopatológicas diretamente proporcionais ao tempo de protrusão, com atrofia dos ácinos glandulares e diminuição da área de tecido secretor da lágrima, salientando-se a relevância do reposicionamento cirúrgico precoce.

Palavras-chave: *Cherry eye*; ácinos; ducto glandular

EVALUATION OF MORPHOMETRIC CHANGES AND GLANDULAR EXPOSURE TIME IN DOGS WITH THIRD EYELID GLAND PROTRUSION

ABSTRACT - Third eyelid gland protrusion is a condition of uncertain etiology, which its continuous exposure can trigger pathological changes in its tissue, and consequently interfere in tear production. This study aims to correlate protrusion time of third eyelid gland with histopathologic changes and its effects on lacrimal production. Eighteen glands of 15 dogs (eight females and seven males) with third eyelid gland protrusion were divided in 3 groups (Group 1: up to six months of protrusion; Group 2: seven to 12 months of protrusion; Group 3: more than 12 months of protrusion) and analyzed. Glandular repositioning was performed using the Morgan technique. Gland fragments

were collected for histopathological analysis. Group 1 presented a larger area and greater thickness of glandular acini, compared to Groups 2 and 3. Group 3 presented lower tear production compared to Groups 1 and 2, with moderate to severe inflammatory infiltrate. No difference was found between groups in relation to collagen production. Exposure of third eyelid gland causes histopathological changes directly related with the time of protrusion, being found atrophy of glandular acini and decrease of the tear secreting tissue area. Thus, the relevance of early surgical repositioning is emphasized.

Keywords: Cherry eye; acini; glandular duct

INTRODUÇÃO

A protrusão da glândula lacrimal da terceira pálpebra é uma afecção comum em cães, que pode suscitar processos de hiperplasia e de hipertrofia, em decorrência de sua exposição continuada (Slatter, 2005; Colitz *et al.*, 2008). A causa da protrusão permanece desconhecida, todavia acredita-se que ocorram inflamação e enfraquecimento do tecido conjuntivo que mantém a glândula lacrimal em sua posição anatômica (Slatter, 2005; Mazzucchelli *et al.*, 2012; Giuliano, 2013). Sugere-se também que a protrusão pode ser decorrente da conformação anatômica da órbita em raças braquicefálicas, podendo ser unilateral ou bilateral (Morgan *et al.*, 1993).

Os sinais clínicos incluem epífora, hiperemia conjuntival e súbito desenvolvimento de massa rósea avermelhada no canto medial do olho, motivo pelo qual a doença pode também ser denominada *Cherry eye* (Martin, 2009; Dehghan *et al.*, 2012). É comum em cães jovens e existe predisposição racial do Cocker Spaniel, Basset Hound, Beagle, Boston Terrier, Bulldog Inglês e Francês, Pug, Lhasa Apso, Pequinês e Shih Tzu (Morgan *et al.*, 1993; Hendrix, 2007; Wouk *et al.*, 2009; Giuliano, 2013; Domenico *et al.*, 2016).

As glândulas lacrimais são constituídas por unidades secretoras, ductos e tecido conjuntival de sustentação, que são componentes epiteliais e formam o parênquima glandular. O estroma glandular é formado por tecido conjuntivo frouxo a denso, incluindo vasos sanguíneos e nervos (Dugan, 1992; Cormack, 1996; Slatter, 2005, Cabral *et al.*, 2005). Nos quadros de protrusão da glândula lacrimal da terceira pálpebra,

a exposição glandular pode causar alterações celulares como hiperplasia e/ou hipertrofia e adenite discreta (Read *et al.*, 1996).

Múltiplos fatores podem influenciar a produção lacrimal, dentre eles estão os fatores fisiológicos (idade, gênero e raça), os ambientais (umidade relativa e temperatura, uso de alguns fármacos) e os patológicos (Wouk *et al.*, 2009). A ceratoconjuntivite seca, em suas várias etiologias, é elencada como a principal causa patológica da diminuição da produção de lágrima no cão (Giuliano, 2013). Suspeita-se que hiperplasia/hipertrofia da glândula lacrimal da terceira pálpebra possa também influenciar negativamente na produção lacrimal, a depender do tempo de protrusão da glândula lacrimal e das alterações histopatológicas sofridas durante a exposição.

Assim, esse trabalho tem como objetivo correlacionar o tempo de protrusão da glândula lacrimal da terceira pálpebra às alterações morfométricas decorrentes no tecido glandular e à produção do filme lacrimal, posto que não existem informações na literatura sobre tal interdependência. Espera-se averiguar se o tempo de exposição glandular interfere na sua função secretora e quais alterações histopatológicas podem ser evidenciadas.

MATERIAL e MÉTODOS

O estudo foi realizado após a aprovação do projeto de pesquisa pela Comissão de Ética para Uso de Animais (CEUA) da UFPB sob protocolo nº 1115110319/2019, e de acordo com as normas da Association for Research in Vision and Ophthalmology (1985). Quinze cães (oito fêmeas e sete machos), diagnosticados com protrusão da glândula lacrimal da terceira pálpebra, participaram da pesquisa (Fig. 1). Os animais foram oriundos do atendimento do Serviço de Oftalmologia Veterinária do Hospital Veterinário da UFPB. Os tutores dos cães foram esclarecidos sobre o estudo e concederam a participação do seu animal na pesquisa, após acordarem e assinarem o Termo de Consentimento (Anexo 1).

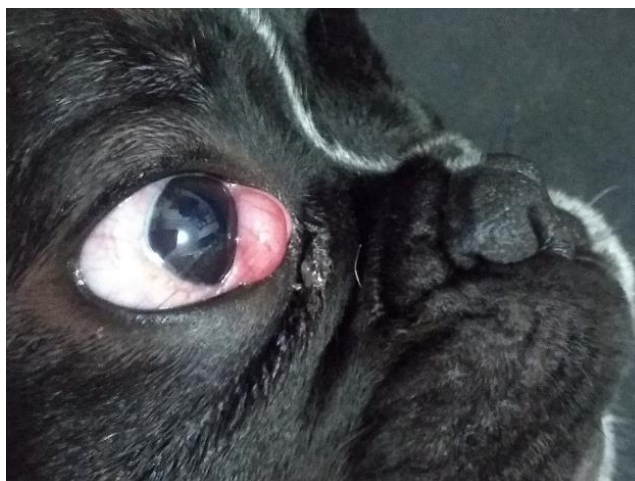


Figura 1- Bulldog francês, macho, 10 meses de idade, com protrusão unilateral da glândula lacrimal da terceira pálpebra há dois meses.

A idade dos cães variou de cinco meses a oito anos, e o peso corpóreo de 4,1 kg a 47,5 kg. Com relação às raças, quatro cães eram sem raça definida, três Poodles, três Bulldog Franceses, dois Lhasa Apsos, um Yorkshire terrier, um Beagle e um São Bernardo. A protrusão da glândula da terceira pálpebra foi unilateral em 12 animais, e em três foi observada bilateralmente, totalizando 18 glândulas lacrimais.

Os animais foram submetidos ao exame físico geral e ao exame oftalmológico, incluindo o teste lacrimal de Schirmer tipo 1 (TLS-1), reflexo de ameaça, reflexo pupilar à luz, a inspeção das estruturas do bulbo do olho e dos anexos oculares, com auxílio de lupa e lanterna, tonometria de aplanção, oftalmoscopia indireta e teste da fluoresceína.

Os cães (18 glândulas) foram divididos em grupos de acordo com o tempo de protrusão da glândula lacrimal da terceira pálpebra, percebido pelo tutor. O Grupo 1 foi constituído por cães que apresentavam tempo de protrusão glandular de zero a seis meses, o Grupo 2, de sete a 12 meses, e o Grupo 3 foi composto por cães que apresentavam a afecção há mais de 12 meses. Devido ao fato de alguns animais apresentarem a protrusão glandular bilateralmente, o Grupo 1 foi constituído por sete amostras, o Grupo 2 por seis amostras e o Grupo 3 por cinco amostras.

Todos os animais foram submetidos à cirurgia para o reposicionamento da glândula lacrimal da terceira pálpebra. Para tanto, foram realizados exames laboratoriais pré-operatórios como hemograma e bioquímica sérica para compor o perfil renal e hepático de cada animal.

O TLS-1 foi realizado novamente em ambos os olhos de todos os animais no dia da cirurgia, imediatamente antes da aplicação da medicação pré-anestésica, valendo-se destes valores para posterior comparação após o reposicionamento cirúrgico.

Os cães foram premedicados com meperidina (Dolantina®, Cristália, Brasil) na dose de 4 mg/kg e acepromazina (Acepran®, Vetnil, Brasil) na dose de 0,02 mg/kg, aplicadas na mesma seringa pela via intramuscular. A indução anestésica foi realizada com propofol (Propofol®, Biossintética, Brasil), em dose de 4 mg/kg, IV. Ato contínuo, efetuou-se a intubação orotraqueal e a oferta de isoflurano (Isoforine®, Cristália, Brasil), com fração inspirada de 100% ($FiO_2 = 1,0$), mantendo-se os animais em ventilação espontânea.

A técnica cirúrgica empregada em todos os casos foi o sepultamento da glândula lacrimal dentro da bolsa conjuntival da terceira pálpebra, empregando-se a técnica de *pocket* de Morgan, valendo-se de dois planos de sutura, sendo um simples contínuo e um invaginante, com fio absorvível de ácido poliglicólico 4-0 ou 5-0 (Ácido Poliglicólico, Bioline®, Brasil).

No período pós-operatório, os cães foram medicados com pomada oftálmica à base de cloranfenicol, aminoácidos, metionina e acetato de retinol (Regencel®, Latnofarma, Brasil), BID/10 dias, e mantidos com colar elizabetano durante 15 dias. Os protocolos anti-inflamatório com meloxicam (Flamavet®, Agener União, Brasil) na dose de 0,1 mg/kg/SID/4 dias/VO e analgésico com tramadol (Cronidor®, Agener União, Brasil) na dose de 2 mg/kg/BID/4 dias/VO, foram prescritos.

Aos 15 dias após a realização da cirurgia os animais foram reavaliados e a produção lacrimal foi novamente aferida por meio do TLS-1, com a finalidade de compará-la aos valores pré-operatórios.

Imediatamente antes do início da cirurgia, um fragmento da glândula lacrimal da terceira pálpebra de todos os cães foi excisado com auxílio de *punch* de biópsia de dois ou quatro milímetros de diâmetro. Os fragmentos, foram retirados da parte medial da glândula e variaram de 0,2 mm³ a 0,4 mm³, proporcionalmente ao tamanho da glândula, foram fixados por imersão em formol tamponado a 10% e inclusos em parafina segundo processamento histológico padrão (Ramos *et al.*, 2011) e, em seguida, realizou-se a microtomia a 5 µm de espessura de cada bloco de parafina.

As amostras foram submetidas a exame histopatológico e análise morfométrica, onde foram analisados o tamanho das células e a dilatação dos ductos glandulares. Para tanto, as lâminas histológicas submetidas à coloração de hematoxilina-eosina padrão e

digitalizadas em câmera acoplada em microscópio óptico (Microscópio Olympus BX-53®, Olympus Microscopy, Europa).

As análises histomorfométricas foram realizadas por um único avaliador (MCPB) para evitar erros de interpretação. No estudo morfométrico de área glandular foram realizadas quatro fotomicrografias de cada glândula, mensurando-se cinco campos diferentes com contagem de 20 ácinos glandulares, medindo-se a área total da glândula em micrômetros quadrados. No estudo morfométrico da altura do epitélio das células glandulares, foram elaboradas quatro fotomicrografias de cada glândula, e mensurado a altura do epitélio de 20 ácinos glandulares. Ambas as análises foram realizadas através do programa Motic Image Plus 2.0, perfazendo-se um número de 1440 amostras (18 amostras animais x 4 fotomicrografias x 20 mensurações) para cada análise.

Para quantificar a formação de colágeno no tecido glandular as lâminas histológicas foram coradas com Picrossírius, utilizando-se a metodologia descrita por Hotchkiss (1948). Cada lâmina foi fotomicrografada três vezes, em objetiva de 40 x, em três campos diferentes, a fim se atribuir um escore de avaliação para cada glândula analisada, as amostras foram vistas em microscópio óptico (Microscópio Olympus BX-53®, Olympus Microscopy, Europa). Para a concentração de colágeno atribuiu-se escores de acordo com a presença de colágeno, ou seja, quantidade e intensidade da coloração vermelha no tecido, sendo que 0 (zero) significava ausência de colágeno; 1 pouco colágeno; 2 quantidade intermediária de colágeno entre os ácinos glandulares e envolvendo a glândula; e 3, grande quantidade de colágeno entre os ácinos glandulares e envolvendo a glândula, seguindo de forma modificada o Score Semi Quantitativo de Ishank (Ishank *et al.*, 1995).

Para avaliar a ocorrência de hiperplasia ou hipertrofia glandular, o estudo imunohistoquímico foi realizado com o Antígeno Nuclear de Proliferação Celular – PCNA (Sigma, Clone C13000), que visa verificar células na fase S do ciclo celular. As lâminas foram reidratadas, submetidas ao bloqueio com três banhos de peróxido de hidrogênio durante 10 minutos cada e lavadas com tampão fosfato (PBS) por três vezes de três minutos. O desmascaramento foi realizado com tampão citrato (pH 6,0) por 10 minutos em micro-ondas. As lâminas foram novamente lavadas em PBS e incubadas a 4°C overnight com os anticorpos diluídos em PBS (1: 200). No dia seguinte foi adicionado o anticorpo secundário biotinilado por 15 minutos, seguido da incubação em complexo streptavidina-peroxidase (DAKO-LSAB) por 30 minutos. As células positivas foram marcadas pelo cromógeno DAB (DAKO) por cinco minutos. As

fotomicrografias foram realizadas em Microscópio Olympus BX-53 (Olympus Microscopy, Europa) com o programa analisador de imagens Motic Image Plus 2.0 (Motic, Europa). A positividade foi avaliada pelo número de núcleos positivos ao anti-pcna.

Foi utilizado o software Prism 7.0 para as análises estatísticas de morfometria. Realizou-se análise ANOVA entre os grupos para a análise morfométrica com post test de Tukey com 5% de probabilidade (Team, 2018).

RESULTADOS

Animais com menores tempos de protrusão da glândula da terceira pálpebra, Grupos 1 e 2, apresentaram maior produção de lágrima do que os animais do Grupo 3, com maior tempo de protrusão ($p < 0,05$; Fig. 2). Quinze dias após o procedimento cirúrgico de sepultamento da glândula lacrimal da terceira pálpebra observou-se aumento na produção de lágrima nos animais do estudo, demonstrada pelo teste lacrimal de Schirmer (Tab 1). Em três cães, sendo um da raça Poodle, um São Bernardo e um Beagle (todos do Grupo 3), observaram-se sinais clínicos de ceratoconjuntivite seca, com presença de grande quantidade de secreção do tipo mucopurulenta, hiperemia conjuntival e neovascularização corneal. Nos três pacientes, no período pré-operatório os valores do teste lacrimal de Schirmer foram 5 mm/min, 8 mm/min e 9 mm/min, respectivamente. No período pós-operatório, decorridos 15 dias, os valores aumentaram para 10 mm/min, 15 mm/min e 17 mm/min, respectivamente, e os sinais clínicos evidenciados diminuíram.

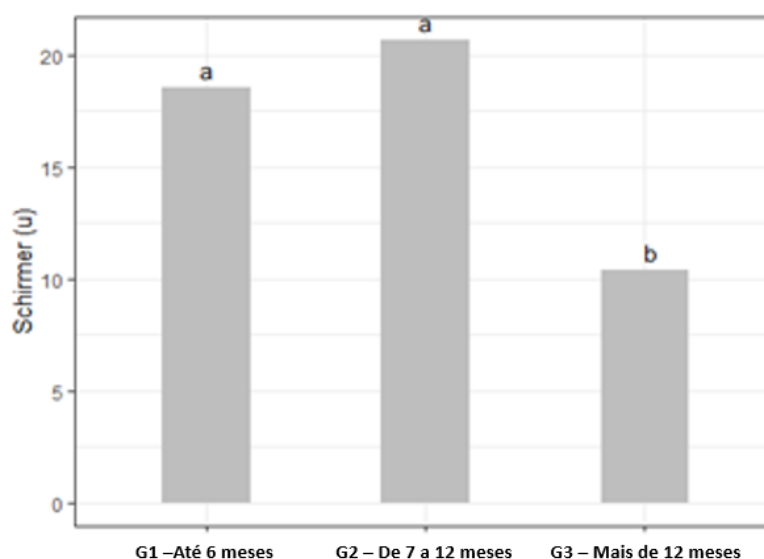


Figura 2- Média dos valores do teste lacrimal de Schirmer tipo 1 em 15 cães (18 glândulas) com diferentes tempos de protrusão da glândula da terceira pálpebra.

215

Grupo	Raça	Sexo	Idade	Olho Direito	TLS -1 antes	TLS -1 depois	Olho Esquerdo	TLS -1 antes	TLS -1 depois
Grupo 1 0 a 6 meses	Poodle	F	3 a	*OD	14	15	*OE	16	20
	Bulldog Francês	M	10 m	*OD	19	22	*OE	12	19
	Bulldog Francês	M	5 m	*OD	24	27	OE	22	23
	SRD	F	5 a	OD	16	16	*OE	13	20
	Yorkhire	F	8 m	OD	22	23	*OE	17	22
Grupo 2 7 a 12 meses	Lhasa Apso	M	2 a	*OD	15	19	OE	18	22
	Bulldog Francês	F	11 m	*OD	15	25	*OE	20	25
	Poodle	F	2 a	*OD	20	23	OE	22	25
	SRD	M	7 a	OD	25	26	*OE	24	30
	SRD	M	2 a	OD	30	28	*OE	24	24
Grupo 3 Acima de 12 meses	Poodle	F	3 a	OD	15	15	*OE	5	10
	SRD	F	8 a	*OD	10	13	OE	20	21
	Beagle	M	3 a	*OD	9	17	OE	16	16
	São Bernardo	F	3 a	*OD	8	15	OE	14	14
	Lhasa Apso	M	5 a	*OD	13	14	OE	17	17

Tabela 1 – Raça, sexo, idade, olho acometido (*) e valores do teste lacrimal de Schirmer tipo 1 (TLS-1) dos cães dos Grupos 1, 2 e 3, mensurados no dia da realização do procedimento cirúrgico para sepultamento da glândula lacrimal da terceira pálpebra e 15 dias após, em mm/minuto.

Nos resultados encontrados na mensuração da área dos ácinos glandulares, observou-se que os animais do Grupo 1 apresentaram uma área média significativamente maior do que a média dos cães dos Grupos 2 e 3, os quais não apresentaram diferença entre eles (Fig. 3).

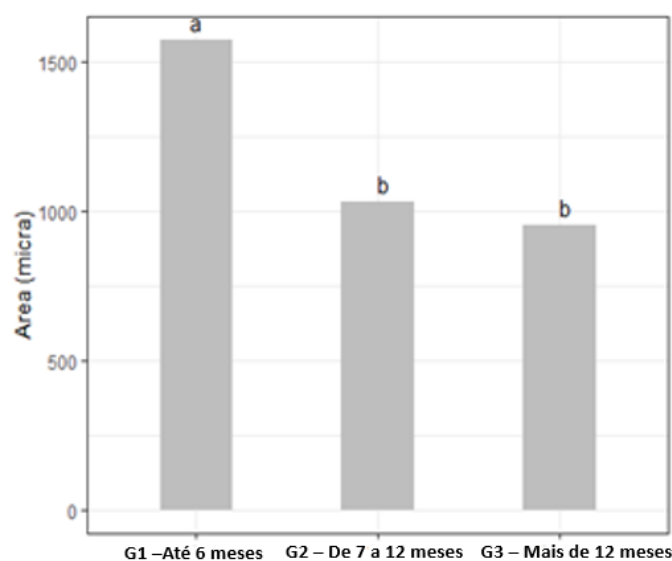


Figura 3 – Média do tamanho da área dos ácinos da glândula lacrimal da terceira pálpebra em 15 cães (18 glândulas) com diferentes tempos de protrusão da glândula lacrimal da terceira pálpebra.

No que se refere à espessura da glândula, os animais com até seis meses de protrusão (Grupo 1) apresentaram um tamanho significativamente maior da parede do ácino, comparativamente aos animais dos Grupos 2 e 3, que não apresentaram diferença significativa entre as suas médias (Fig. 4 e 5).

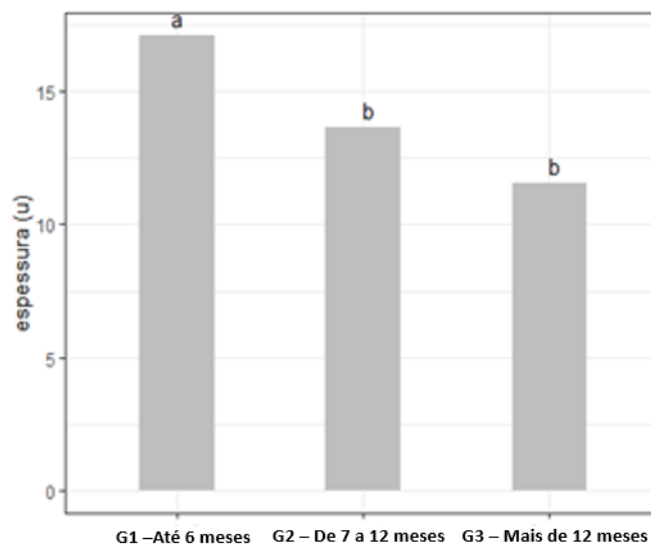


Figura 4 - Média da espessura da parede da glândula dos 15 cães (18 glândulas) com diferentes tempos de protrusão da glândula da terceira pálpebra.

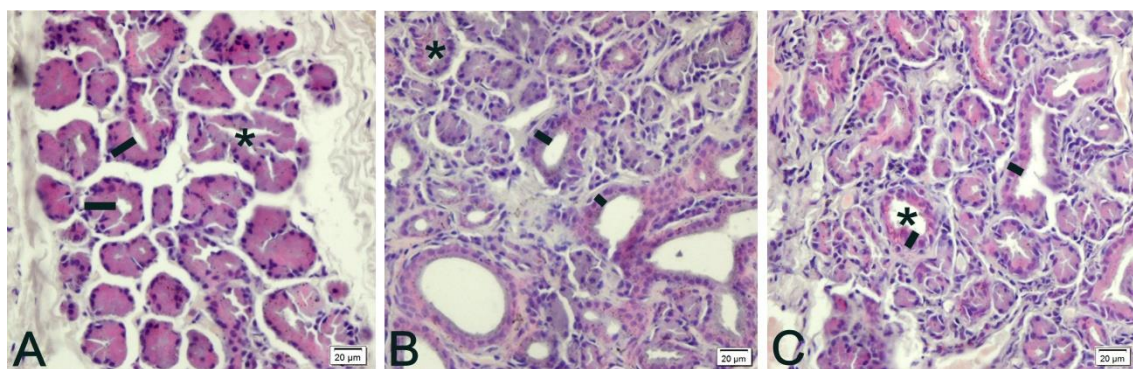


Figura 5- Fotomicrografias de glândulas lacrimais da terceira pálpebra de cães com diferentes tempos de protrusão (A: 0-6 meses; B: 7-12 meses; C: acima de 12 meses de protrusão). Observar que o epitélio (linha preta) das glândulas do grupo “A” é mais espesso que nos demais grupos (B, C). Observar também que em média, as glândulas (asterisco) do grupo “A” tem maior área que as dos demais grupos (B, C). Coloração de hematoxilina-eosina. Aumento de 400x.

Não houve diferença significativa em relação à quantidade de colágeno encontrada entre cada estrutura dos ductos e ácinos entre os três grupos analisados (Fig. 6). O colágeno estava presente em quantidade moderada nos três grupos.

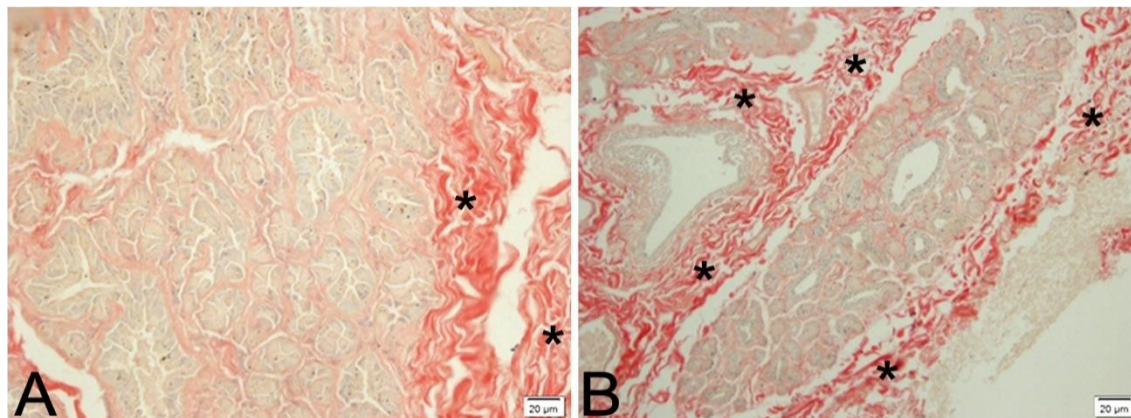


Figura 6 - Fotomicrografias representativas de glândulas lacrimais da terceira pálpebra de cães com diferentes tempos de protrusão. Observar que quando da protrusão há um acúmulo de tecido conjuntivo (asteriscos) periglandular levando a uma hipertrofia glandular. Coloração de Picrosirius. Aumento de 400x.

Na análise histopatológica, o Grupo 1 apresentou 85,71% (6/7) de infiltrado inflamatório discreto com presença de linfócitos, e apenas uma glândula (1/7 - 14,29%) apresentou grau acentuado de inflamação com presença de linfócitos, plasmócitos, macrófagos e neutrófilos. No Grupo 2 havia uma glândula (1/6 - 17%) com presença de infiltrado celular discreto, duas glândulas (2/6 - 33%) com infiltrado moderado e três glândulas (3/6 - 50%) com infiltrado inflamatório acentuado. Observaram-se no Grupo 3, duas glândulas (2/5 - 40%) com infiltrado moderado (Fig. 6) e três (3/5 - 60%) com infiltrado celular acentuado.

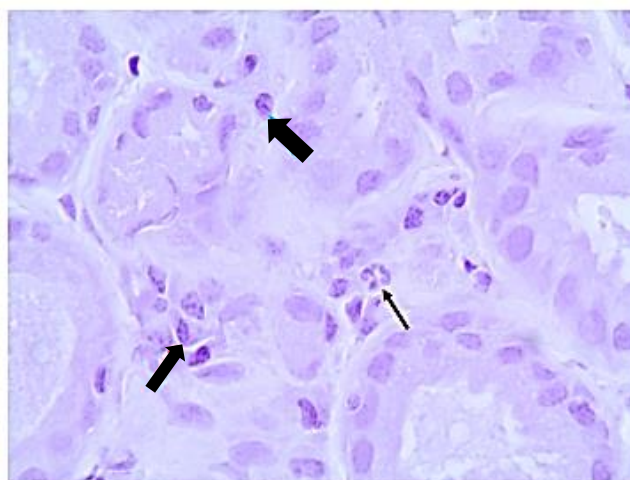


Figura 7 - Infiltrado inflamatório misto moderado, composto por linfócitos (seta grossa), plasmócitos (seta média) e neutrófilos (seta fina) em canino com protrusão da glândula lacrimal da terceira pálpebra há mais de 12 meses. Coloração de hematoxilina-eosina. Aumento de 1000x.

Na imunohistoquímica poucas células do epitélio glandular encontravam-se em proliferação celular nos diferentes grupos (Fig. 8).

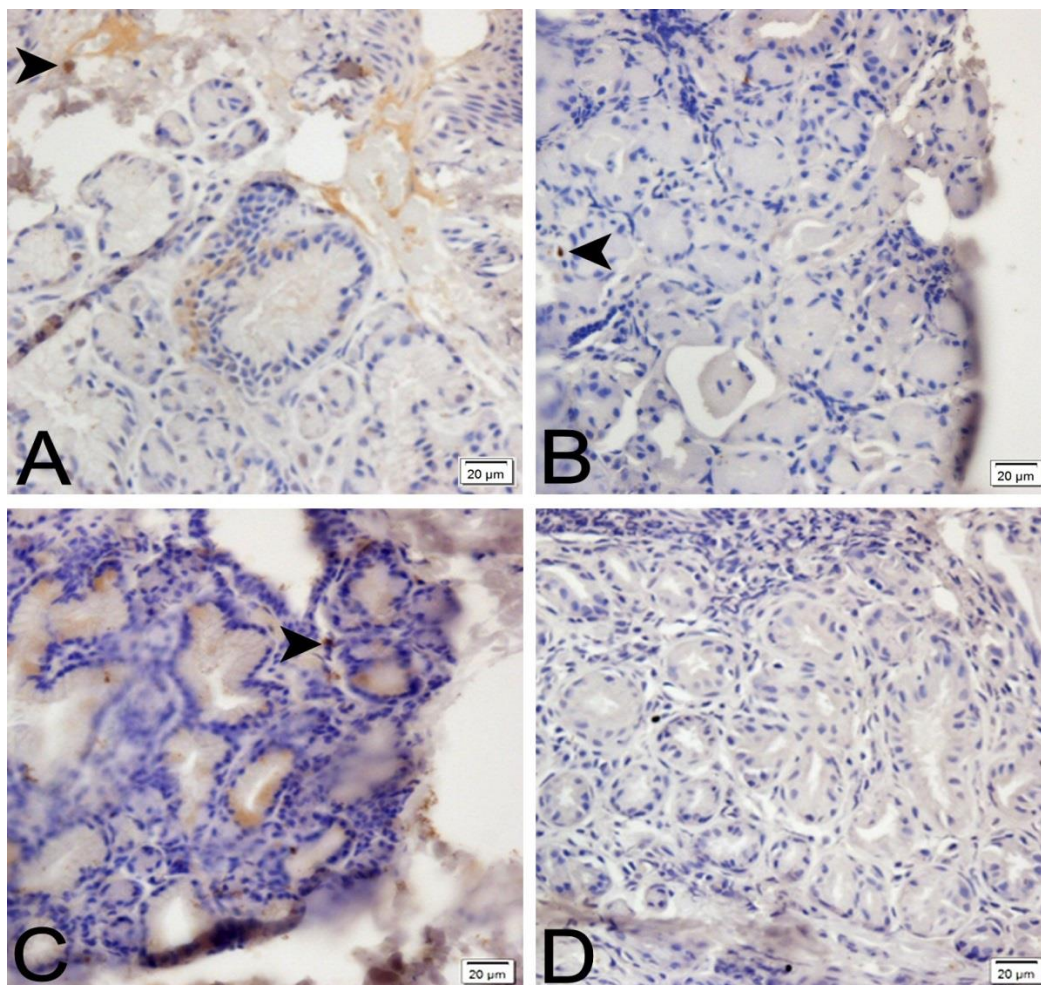


Figura 8 - Fotomicrografias de imunohistoquímica para anti-PCNA (positividade nuclear) em glândulas lacrimais da terceira pálpebra de cães com diferentes tempos de protrusão. (A: 0-6 meses; B: 7-12 meses; C: acima de 12 meses de protrusão; D: Controle negativo). Poucas células PCNA positivas (pontas de setas), ou seja, escassas células do epitélio glandular encontravam-se em proliferação celular nos diferentes grupos. Coloração de hematoxilina + cromófo DAB (diaminobenzidina). Aumento de 400x.

DISCUSSÃO

A menor espessura da parede dos ácinos e da área acinar encontradas nos animais com mais de seis meses de protrusão glandular (Grupos 2 e 3), quando comparadas aos animais com até seis meses de protrusão (Grupo 1), associada à maior porcentagem de infiltrado celular inflamatório, sugerem que o tempo de protrusão esteja associado às alterações patológicas glandulares. O maior tempo de protrusão e

exposição da glândula lacrimal reduziu a área e a espessura dos ácinos glandulares, provocando a redução da sua funcionalidade, caracterizada pela diminuição na produção do filme lacrimal, o que pode conduzir ao aparecimento de complicações oftálmicas, como a ceratoconjuntivite seca. Estes achados caracterizam um processo de atrofia do tecido glandular, posto que o infiltrado de células inflamatórias aumenta e a produção lacrimal diminui após seis meses de protrusão da glândula.

As alterações histopatológicas encontradas nesse estudo são similares àquelas relatadas por Brandão *et al.* (2007), que observaram, após a excisão de glândulas lacrimais da terceira pálpebra de cães com protrusão, infiltrado inflamatório predominantemente mononuclear em região periacinar e dilatação do lúmen dos ductos e metaplasia. Os autores consideraram, ainda, que as mudanças histopatológicas encontradas nos cães, eram discretas, caracterizando um quadro de adenite suave. No entanto, os autores não relataram o tempo que os cães estavam acometidos com a protrusão. Nos cães desse estudo, o maior tempo de protrusão glandular esteve relacionado somente à presença de infiltrados inflamatórios moderados e acentuados, e não discretos.

As glândulas dos três cães com presença de sinais clínicos de ceratoconjuntivite seca, confirmados pelo teste lacrimal de Schirmer, apresentavam infiltrado inflamatório acentuado, constituído por linfócitos, plasmócitos e macrófagos, e os três animais pertenciam ao grupo com maior tempo de exposição glandular (acima de 12 meses). Canapp *et al.* (2001) já haviam relatado graus variados de adenite crônica em um gato com Síndrome semelhante a de Sjögren no homem (mucosas ocular e oral ressecadas), caracterizada por atrofia dos ácinos e quantidade expressiva de tecido fibroso interacinar, com número aumentado de plasmócitos e linfócitos. Da mesma maneira, Martin (2009) descreveu adenite crônica com predominância de linfócitos nas glândulas lacrimais da terceira pálpebra de cães portadores de ceratoconjuntivite seca, sugerindo que a inflamação poderia ser de origem imunológica. Essas informações sugerem que o tempo de exposição e o agravamento do processo inflamatório nos animais com protrusão da glândula lacrimal da terceira pálpebra estão relacionados ao aparecimento da ceratoconjuntivite seca.

Nesse estudo foi possível perceber que, decorridos 15 dias do procedimento cirúrgico de sepultamento da glândula lacrimal da terceira pálpebra, os valores de Schirmer encontravam-se maiores comparativamente aos valores observados antes do procedimento, com maior destaque àqueles três cães do grupo com mais de doze meses

de protrusão que apresentaram valores condizentes com ceratoconjuntivite seca antes da cirurgia. Dugan *et al.* (1992) já haviam constatado o valor de Schirmer maior em animais submetidos ao sepultamento glandular, relativamente àqueles cujas glândulas mantiveram-se protruídas ou foram excisadas. A produção lacrimal notadamente maior após o reposicionamento cirúrgico da glândula lacrimal ressalta a importância da correção cirúrgica o mais precoce possível.

Relativamente à quantidade de colágeno verificada nesse trabalho, não houve diferença significativa dentre as amostras, entretanto a coloração por Picrossírius revelou que o colágeno estava presente em quantidade moderada nos três grupos. O colágeno desempenha importantes funções estruturais em muitos tecidos e órgãos, auxiliando na resistência e elasticidade (Verhaegen *et al.*, 2012) e as glândulas lacrimais apresentam, em sua constituição, finas fibras colágenas do tipo I e II, dispostas em forma de placas paralelas (Laus, Oriá, 1999). Acredita-se que nos momentos iniciais da protrusão da glândula da terceira pálpebra, juntamente com a infiltração de células inflamatórias no tecido glandular, ocorra uma proliferação de fibras colágenas, e que esta proliferação não seja proporcional ao tempo de protrusão.

A proliferação celular foi observada pelo estudo imunohistoquímico, em pequena quantidade, em três glândulas, sendo possível inferir que o processo de hiperplasia no tecido glandular não é predominante, assim como também não é o processo de hipertrofia. Os processos de hipertrofia e de hiperplasia celulares, que fazem parte da denominação consagrada da doença (Hiperplasia/hipertrofia da glândula da terceira pálpebra), já descritas por Read *et al.* (1996), não são predominantes na protrusão da glândula lacrimal da terceira pálpebra, pelo menos nos tempos estudados.

Dessa maneira, é possível afirmar que com o decorrer do tempo de exposição da glândula lacrimal parece haver a diminuição da área e da espessura da parede de seus ácinos, com consequente redução de sua função ímpar, que é a lubrificação da superfície ocular, salientando-se a importância do reposicionamento cirúrgico precoce da glândula lacrimal da terceira pálpebra, pelas mais variadas técnicas, a fim de se evitar tais lesões permanentes ao seu tecido e à sua função.

CONCLUSÕES

A exposição prolongada da glândula lacrimal da terceira pálpebra promove alterações ductais e acinares, com presença de infiltrado inflamatório, em graus proporcionalmente maiores, de acordo com o tempo de protrusão. Quanto maior é o

tempo de exposição desta glândula maior é o dano tecidual com atrofia dos ácinos glandulares e consequente diminuição da área total para produção da lágrima.

REFERÊNCIAS

- ARVO, Association for Research in Vision and Ophthalmology. National Institutes of Health Publications. Sarasota- Flórida, 1985. n.85-23. 4p.
- BRANDÃO, C.V.; ROCHA, N.S.; RANZANI, J.J. *et al.* Prolapsed third eyelid gland in dogs: cytologic and histopathologic evaluation. *Arc. of Vet. Sci.*, v 12, n.3. p.21-25, 2007.
- CABRAL, V. P.; LAUS, J. L.; TALIERI, I. C.; *et al.* Canine lacrimal and third eyelid superficial gland's macroscopic and morphometric characteristics. *Cien. Rur.* v. 35, n. 2, p. 391-397, 2005.
- CANAPP, S.O. *et al.* Xerostomia, xerophthalmia, and plasmacytic infiltrates of the salivary glands (Sjögren's-like syndrome) in a cat. *Jour. of Ame. Vet. Med Ass.*, v.218, n.1, p.59-65, 2001.
- COLITZ, C. M. H.; BIRCHARD, S. J.; SHERDING, R. G. Doenças do sistema lacrimal. In: *Manual Saunders: clínica de pequenos animais*. 3 ed. São Paulo: Roca, cap. 139, p. 1416-1421, 2008.
- CORMACK, D.H. Tecido epitelial. In: _____. *Fundamentos de histologia*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. cap.3, 1996, p.70-83.
- DEHGHAN M. M; PEDRAM, M.S, AZARI, O; *et al.* Clinical evaluation of the pocket technique for replacement of prolapsed gland of the third eyelid in dogs. *Turkish .Jour. of Vet. and Ani. Sci.*; 36: 352–356, 2012.
- DOMENICO, M.; ANNA P.; BARBARA, C., GIADA, D.; *et al.* Pocket technique or pocket technique combined with modified orbital rim anchorage for the replacement of a prolapsed gland of the third eyelid in dogs: 353 dogs. *Vet. Oph.* 19, 3, 214–219, 2016.
- DUGAN, S.J. Clinical and histologic evaluation of the prolapsed third eyelid gland in dogs. *Jou. of Ame. Vet. Med. Ass.*, v.201, n.12, p.1861-1867, 1992.
- GIULIANO, E. A. Diseases and surgery of the canine lacrimal secretory system. In: GELATT, K.; GILGER, B.; KERN, T. *Vet. Oph.: Two Vol. Set, 5th Ed.*, Ed Wiley-Blackwell, 912-944, 2013.
- ISLANK, K.; BAPTISTA A.; L. BIANCHI, L.; *et al.* Histological grading and staging of chronic hepatitis. *Jour. of Hep.* 22:696-699, 1995.
- HENDRIX, D.V.H. Canine conjunctiva and nictitating membrane. In: *Vet. Oph.*, Blackwell Publishing, Ames, 4th edn, ed. Gelatt KN, pag 676, 2007.

- 391 HOTCHKISS, RD. A microchemical reaction resulting in the standing of polysaccharide
 392 structures in fixed tissue preparations. Arch Bioch; 16: 131,1948.
 393
- 394 LAUS, J. L.; ORIÁ, A. P. Doenças corneanas em pequenos animais. Rev. de Edu. Cont.
 395 do CRMV-SP / São Paulo. Vol. 2. Fascículo I. 1999, pag.26 - 33.
 396
- 397 MARTIN, C.L. Conjunctiva and third eyelid. In: _____. Ophthalmic Disease
 398 in Veterinary Medicine. Manson Publishing Ltda, London. 2009, pag. 183-214.
 399
- 400 MORGAN, R.V.; DUDDY, J. M.; McCLURG, K. Prolapse of the gland of the third
 401 eyelid in dogs: a retrospective study of 89 cases (1980 to 1990). Jour. of the Amer. Ani.
 402 Hosp. Ass., 29, pag.56–60, 1993.
- 403 RAMOS, A.; SANTOS, L.; GUERRA, R. et al. Biometria, histologia e morfometria do
 404 sistema digestório do cachorro-do-mato (*Cercopithecus thomasi*) de vida livre. Revista
 405 Biotemas, 24 (4), 111, 2011.
- 406 READ, R. A.; DUNK, K. A.; SMITH, K. C.; BARNETT, K. C. A histological study of
 407 nictitans glands from dogs with tear overflow of unknown cause. Vet. Comp. Oph., v. 6,
 408 n. 3, p. 195-204, 1996.
 409
- 410 SLATTER, D. Sistema lacrimal. In: _____. Fundamentos de oftalmologia veterinária.
 411 3. ed. São Paulo: Roca. cap. 10, 2005, p. 259-282.
- 412 TEAM, C. A Language and Environment for Statistical Computing. R Foundation for
 413 Statistical Computing, Vienna, Áustria., 2018. Disponível em: < [https://www.R-](https://www.R-project.org/)
 414 [project.org/](https://www.R-project.org/)>. Acessado 06 de junho de 2019.
- 415 VERHAEGEN, P.D.; SCHOUTEN, H. J.; TIGCHERLAAR-GUTTER, W. *et al.*
 416 Adaptation of the dermal collagen structure of human skin and scar tissue in
 417 response to stretch: an experimental study. Wou. Rep. Regen., v.20, p.658-666, 2012.
 418
- 419 WOUK, A.; SOUZA, A. L.; FARIAS, M.R. Afecções dos anexos oftálmicos.
 420 In:_____ Oftalmologia Clínica e Cirúrgica em cães e em gatos. Editora Rocca. 1ª
 421 edição, cap 3, 2009, pág 33- 60.
 422
 423

Considerações Finais

A exposição da glândula lacrimal da terceira pálpebra, que ocorre nos casos de protrusão ou *Cherry eye*, pode promover diminuição da produção do filme lacrimal, decorrente da redução de tecido glandular funcional. Os danos teciduais, caracterizados pela atrofia dos ácinos e presença de infiltrado inflamatório em larga escala, tendem a ser proporcionalmente maiores, quanto maior for o tempo de protrusão da glândula lacrimal.

Estudos futuros, com tempos de exposição glandular maiores e número amostral maior em cada escala de tempo, são necessários para averiguar esta correlação do tempo de doença com as alterações histopatológicas e funcionais que a glândula lacrimal da terceira pálpebra pode sofrer quando protruída.

A implicância clínica destes achados são as consequências oftálmicas que esta afecção, tão frequente, podem produzir para a superfície ocular, com sinais clínicos de ceratoconjuntivite seca. Desse modo, salienta-se a importância do reposicionamento cirúrgico da glândula lacrimal, pelas mais variadas técnicas, a fim de se evitar tais lesões permanentes ao seu tecido e à sua função.

Anexo

Nº de identificação

Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

Prezado Sr. (a):

Esta pesquisa faz parte do experimento sobre **“Correlação das alterações morfológicas e tempo de protrusão glandular em cães com hiperplasia/hipertrofia da glândula lacrimal da terceira pálpebra”** e está sendo desenvolvida pela médica veterinária Maria Caroline Pereira Brito, mestranda do Programa de Pós-graduação em Ciência Animal da Universidade Federal da Paraíba, sob a orientação da Profª Drª Ivia Carmem Talieri.

O estudo tem por objetivo avaliar, por meio do exame histopatológico, as glândulas lacrimais da terceira pálpebra que sofreram protrusão, observando se há aumento dos parâmetros inflamatórios em decorrência do tempo de exposição desta glândula, assim como sua influência sobre a diminuição da produção de lágrima.

No experimento o animal que apresenta protrusão da glândula da terceira pálpebra será submetido à avaliação pré-operatória, anestesia e cirurgia para sepultamento da glândula da terceira pálpebra. Durante o procedimento será mensurado o tamanho da glândula e retirado um fragmento glandular para o exame histopatológico. No período pós-operatório serão prescritos medicação analgésica e anti-inflamatória por via oral, aplicação de antibiótico por via tópica e colocação de colar elisabetano.

Atenciosamente,
Maria Caroline Pereira Brito

Eu: _____,
CPF: _____-____ ou RG: _____, declaro,
para fins do exposto no presente documento, que fui informado(a) dos objetivos e da relevância do estudo proposto e aceitei colaborar com o experimento do mestrado, realizado no Hospital Veterinário da Universidade Federal da Paraíba, na qualidade de coparticipante autorizando a manipulação do animal que está sob minha responsabilidade, bem como a anestesia e cirurgia para correção da protrusão da glândula da terceira pálpebra, além de retornar com o animal para a retirada dos pontos. Também concordo que os dados obtidos sejam utilizados para fins científicos.

Areia, _____ de _____ de 2019.

Assinatura

Referências

ARVO, Association for Research in Vision and Ophthalmology. **National Institutes of Health Publications**. Sarasota- Flórida, 1985. n.85-23. 4p.

BRANDÃO, C.V.; ROCHA, N.S.; RANZANI, J.J. *et al.* Prolapsed third eyelid gland in dogs: cytologic and histopathologic evaluation. **Archives of Veterinary Science**, v 12, n.3. P.21-25, 2007.

CABRAL, V. P.; LAUS, J. L.; TALIERI, I. C.; *et al.* Canine lacrimal and third eyelid superficial gland's macroscopic and morphometric characteristics. **Ciência rural**. v. 35, n. 2, p. 391-397, 2005.

CANAPP, S.O. *et al.* Xerostomia, xerophthalmia, and plasmacytic infiltrates of the salivary glands (Sjögren's-like syndrome) in a cat. **Journal of American Veterinary Medical Association**, v.218, n.1, p.59-65, 2001.

COLITZ, C. M. H.; BIRCHARD, S. J.; SHERDING, R. G. Doenças do sistema lacrimal. In: _____. **Manual Saunders: clínica de pequenos animais**. 3 ed. São Paulo: Roca, 2008, cap. 139, p. 1416-1421.

CHAHORY S., CRASTA M., TRIO S. *et al.* Three cases of prolapse of the nictitans gland in cats. **Veterinary Ophthalmology** 2004;7:417–419.

CORMACK, D.H. Tecido epitelial. In: _____. **Fundamentos de histologia**. Rio de Janeiro : Guanabara Koogan, 1996. Cap.3, p.70-83.

DEHGHAN, M.M.; PEDRAM, M.S.; AZARI, O. *et al.* Clinical evaluation of the pocket technique for replacement of prolapsed gland of the third eyelid in dogs. **Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences**. 2012; 36: 352–356.

DOMENICO, M.; ANNA, P.; BARBARA, C.; GIADA, D. M.; ILARIA, I. Pocket technique or pocket technique combined with modified orbital rim anchorage for the replacement of a prolapsed gland of the third eyelid in dogs: 353 dogs **Veterinary Ophthalmology**, 2016, 19, 3, 214–219.

DUGAN, S.J. Clinical and histologic evaluation of the prolapsed third eyelid gland in dogs. **Journal of American Veterinary Medical Association**, v.201, n.12, p.1861-1867, 1992.

FOULKES, G.N; BRON, A.J. Meibomian gland dysfunction: a clinical scheme for description, diagnosis, classification, and grading. **Ocul Surf** 1: 107–126, 2003.

GENESER, F. **Histologia com bases biomoleculares**. Terceira edição. Editora Guanabara Koogan S.A. Cap 07, pag 141-149; cap 24, pag 571-574. Rio de Janeiro, 2003.

- GIULIANO, E. A. Diseases and surgery of the canine lacrimal secretory system. In: GELATT, K.; GILGER, B.; KERN, T. **Veterinary Ophthalmology**. Two Vol. Set, 5th Ed., Ed Wiley-Blackwell, 912-944, 2013.
- KIERSZENBAUM, A L. **Histologia e biologia celular**: uma introdução a patologia. Rio de Janeiro: Elsevier, 2008. Cap 2, pag 59 – 65 e cap 9 pag 273.
- ISLANK, K.; BAPTISTA, A.; BIANCHI, L.; CALLEA, F.; *et al.* Histological grading and staging of chronic hepatitis. **Journal of Hepatology**. 1995. 22:696-699.
- HENDRIX, D.V.H. Canine conjunctiva and nictitating membrane. In: **Veterinary Ophthalmology**, 4th edn. (ed. Gelatt KN). Blackwell Publishing, Ames, IA, 2007; 676.
- HOTCHKISS, R. D. A microchemical reaction resulting in the standing of polysaccharide structures in fixed tissue preparations. **Arch Bioch** 1948; 16: 131.
- LAUS, J. L. Afecções dos anexos oftálmicos. In: _____ **Oftalmologia Clínica e Cirúrgica em cães e em gatos**. Editora Rocca. 1ª edição. Cap 3, pag 33- 60, 2009.
- MARTIN, C.L.: Conjunctiva and third eyelid. In: Martin, C.L., Ed. Ophthalmic Disease in Veterinary Medicine. **Manson Publishing Ltd.**, London. 2009; 183-214
- MAZZUCHELLI, S; VAILLANT, M. D.; WEVERBERG, F. *et al.* Retrospective study of 155 cases of prolapse of the nictitating membrane gland in dogs. **Veterinary Record** 2012; 170: 443–445.
- MOORE, C.P., FRAPPEIR, B.L.; LINTON, L.L.: Distribution and course of ducts of the canine third eyelid gland: effects of two surgical replacement techniques. **Vet. Comp. Ophthalmol.**, 1996; 6: 258-264
- MOORE, C. P. Terceira pálpebra. In: ____ SLATTER, D. **Manual de Cirurgia de Pequenos Animais**. 2. ed. São Paulo: Manole, v. 2, 1998, p. 1428-1435.
- MORGAN, R.V.; DUDDY, J.M.; McCLURG, K. Prolapse of the gland of the third eyelid in dogs: a retrospective study of 89 cases (1980 to 1990). **Journal of the American Animal Hospital Association** 1993; 29:56–60.
- PLUMMER, C.E.; KALLBERG, M.E.; GELLAT, K.N. *et al.* Intranictitanstacking for replacement of prolapsed gland of the third eyelid in dogs. **Veterinary Ophthalmology**, 2008;11: 228–233.
- RAMOS, A.; SANTOS, L.; GUERRA, R. *et al.* Biometria, histologia e morfometria do sistema digestório do cachorro-do-mato (*Cercopithecus thomasi*) de vida livre. **Revista Biotemas**, 24 (4), 111, 2011.
- READ, R. A.; DUNK, K. A.; SMITH, K. C.; BARNETT, K. C. A histological study of nictitans glands from dogs with tear overflow of unknown cause. **Veterinary comparative ophthalmology**, v. 6, n. 3, p. 195-204,1996.

SAITO, A.; IZUMISAWA, Y.; YAMASHITA, K. *et al.* The effect of third eyelid gland removal on the ocular surface of dogs. **Veterinary Ophthalmology** 2001;4:13–18

SLATTER, D. Sistema lacrimal. In: _____. **Fundamentos de oftalmologia veterinária**. 3. ed. São Paulo: Roca. 2005, cap. 10, p. 259-282.

STADES, F. C. *et al.* Aparelho lacrimal. In: _____. **Fundamentos de Oftalmologia Veterinária**. São Paulo: Manole, 1999, cap. 6, p. 54-63.

VERHAEGEN, P.D.; SCHOUTEN, H.J.; TIGCHELAAR-GUTTER; W. *et al.* Adaptation of the dermal collagen structure of human skin and scar tissue in response to stretch: an experimental study. **Wound Repair Regen.**, v.20, p.658-666, 2012.